

(19)



Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets



(11) Veröffentlichungsnummer: **0 629 406 A1**

(12)

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

(21) Anmeldenummer: 94107265.4

(51) Int. Cl.⁵: **A61K 37/02, A61K 37/43,
A61K 31/16**

(22) Anmeldetag: 10.05.94

(30) Priorität: 25.05.93 DE 4317282

(43) Veröffentlichungstag der Anmeldung:
21.12.94 Patentblatt 94/51

(94) Benannte Vertragsstaaten:
**AT BE CH DE DK ES FR GB GR IE IT LI LU NL
PT SE**

(71) Anmelder: **BEHRINGWERKE
Aktiengesellschaft
Postfach 1140
D-35001 Marburg (DE)**

(72) Erfinder: **Dickneite, Gerhard, Dr.
Zum Neuen Hieb 31
D-35043 Marburg (DE)
Erfinder: Bosslet, Klaus, Dr.
An der Haustatt 64
D-35037 Marburg (DE)**

(54) **Arzneimittel zur Behandlung der Sepsis und des septischen Schocks.**

(57) Die Erfindung betrifft ein Zweikomponenten-System für die Behandlung und Prophylaxe der Sepsis und des septischen Schocks, wobei die Komponenten bestimmt sind, in Kombination miteinander zu wirken, ein Arzneimittel sowie eine Verpackungseinheit enthaltend beide Komponenten sowie ein Verfahren zu ihrer Herstellung.

EP 0 629 406 A1

Die Erfindung betrifft ein Zweikomponenten-System für die Behandlung und Prophylaxe der Sepsis und des septischen Schocks, wobei die Komponenten bestimmt sind, in Kombination miteinander zu wirken, ein Arzneimittel sowie eine Verpackungseinheit enthaltend beide Komponenten sowie ein Verfahren zu ihrer Herstellung.

5 Trotz des Fortschrittes in der Antibiotika-Therapie ist die bakterielle Sepsis ein zentrales Problem in der Intensivmedizin, und die Mortalität im septischen Schock ist mit 50 - 70 % nach wie vor unakzeptabel hoch.

Speziell gramnegative Bakterien sind im septischen Krankengut nachgewiesen worden; als Infektionsquelle kommt der Magen-Darm-Trakt, die ableitenden Harnwege, der Respirationstrakt, sowie infizierte Wunden und Verbrennungen in Frage.

10 Nach der Freisetzung von Endotoxinen (Lipopolysaccharid, LPS) aus der Bakterienzellwand gramnegativer Bakterien kommt es zu einer Bindung von LPS an das "Lipopolysaccharide Binding Protein (LPB), der LPS/LPB Komplex bindet über den CD14-Rezeptor an Makrophagen. Die so stimulierten Makrophagen sezernieren Zytokine wie u. a. $\text{TNF}\alpha$, Interleukin-1 und Interleukin-6. Durch diese Mediatoren werden Granulozyten aktiviert und das Endothel von einem antikoagulatorischen Zustand in einen prokoagulatorischen Zustand überführt. Durch die Expression von Thromboplastin wird der extrinsische Weg der Gerinnung über die Bildung eines Faktor VII/Thromboplastin Komplexes aktiviert. Es resultiert eine Aktivierung des Prothrombinase-Komplexes und damit eine Umwandlung von inaktivem Prothrombin in enzymatisch aktives Thrombin (Faktor IIa). Durch die Spaltung von Fibrinogen in Fibrin resultiert die Bildung von Mikrothromben (disseminierte intravasale Coagulopathie, DIC) im Endstrombett. Die verminderte Durchblutung führt zu einer Sauerstoffunterversorgung und damit zu Organdysfunktionen (multiples Organversagen). Auf der anderen Seite kann LPS direkt den Faktor XII (Hagemann Faktor) durch die Kontaktaktivierung des intrinsischen Gerinnungssystems und somit auch das Kallikrein/Kinin System sowie das Komplementsystem aktivieren. Die Bildung von Bradykinin bewirkt einen Abfall des Blutdruckes und trägt somit ebenfalls zur Ausbildung des septischen Schocks bei.

25 Es ist bekannt, zur Therapie der Sepsis Antikörper gegen LPS sowie Antikörper, Antagonisten oder lösliche Rezeptoren gegen TNF oder Interleukin-1 einzusetzen.

Thrombin ist die zentrale Protease des Gerinnungssystems, durch ihre Inaktivierung kann die Bildung von Mikrothromben unterdrückt werden.

30 Antithrombin III ist der physiologische Inhibitor des Thrombins, das Protein mit einem Molekulargewicht von 58 kD kann aus menschlichem Plasma isoliert werden. Antithrombin III reagiert in einem stöchiometrischen Verhältnis mit Thrombin, die Geschwindigkeit der Reaktion wird durch sulfatierte Polysaccharide, speziell Heparin, stark erhöht.

In der Sepsis und im septischen Schock wird ein starker Abfall der Plasmaspiegel von aktivem Antithrombin III beobachtet, was einerseits auf einen erhöhten Verbrauch (Bildung eines Thrombin-Antithrombin Komplexes), andererseits auf eine proteolytische Degradation durch Serin-Proteasen, speziell durch Elastase, die aus polymorphkernigen Granulozyten sezerniert wird, schließen läßt.

Es ist bekannt, daß die Substitution von Antithrombin III bei der Sepsis eingesetzt werden kann (B. Blauhut et al., Thromb. Res. 39, 81-89, 1985).

40 Ein weiterer, hochspezifischer Inhibitor des Thrombins stellt Hirudin dar. Für Hirudin wurde ebenfalls Wirksamkeit in der experimentellen Sepsis gezeigt (H. Hoffmann et al., Am. Rev. Respir. Dis. 142, 782-788, 1990).

Es war gefunden worden, daß beide Verbindungen die Sepsis-bedingte Mortalitätsrate verringerten und die Überlebenszeit verlängerten.

Es wurde nun überraschenderweise gefunden, daß sich die antithrombotische Therapie der Sepsis 45 durch die Kombination mit Substanzen, welche nicht auf das Gerinnungssystem wirken, verbessern läßt, und daß diese Kombination zu einer weiteren Reduktion der Mortalität in der Sepsis und im septischen Schock führt.

Als Thrombininhibitoren sind beispielsweise geeignet aus Humanplasma oder gentechnisch hergestelltes Antithrombin III (AT III) sowie Mutanten mit thrombininhibierender Aktivität, natürliches oder gentechnisch hergestelltes Hirudin sowie Mutanten des Hirudin mit thrombin-inhibierender Aktivität oder synthetische Thrombininhibitoren, das heißt, chemisch hergestellte Substanzen, die durch ihre thrombin-inhibierenden Wirkungen gekennzeichnet sind.

Als Kombination mit einem antithrombotischen Prinzip sind Substanzen geeignet, welche die Bildung, die Freisetzung, die Plasma- und Gewebsspiegel sowie die Rezeptorbindung von Zytokinen beeinflussen 55 sowie Inhibitoren des Komplements und des Kallikrein/Kinin-Systems.

Geeignete Substanzen sind Inhibitoren, Antagonisten oder lösliche Rezeptoren von Zytokinen oder Antagonisten von Zytokin-Rezeptoren, vorzugsweise der Zytokine TNF (Tumor Necrosis Factor) und IL-1, oder die Fusionsproteine dieser Substanzen mit einem Fc-Teil eines Antikörpers.

Als Zytokin-Inhibitoren und Zytokin-Rezeptoren oder -Antagonisten sind beispielsweise geeignet Substanzen, die die biologische Wirksamkeit von Interleukin 1 unterdrücken, beispielsweise gentechnisch hergestellter löslicher IL-1-Rezeptor, gentechnisch hergestellter IL-1-Rezeptor oder ein Fc-Fusionsprotein, das IL-1-Rezeptor enthält, Antagonisten des IL-1, d. h. IL-1-ähnliche Polypeptide, die an den Rezeptor binden, aber kein Signal auslösen, Substanzen, die die biologische Wirksamkeit vom Tumor-Nekrose-Faktor (TNF) unterdrücken, beispielsweise gentechnisch hergestellter löslicher TNF-Rezeptor, gentechnisch hergestelltes TNF-Rezeptor oder ein Fc-Fusionsprotein, das TNF-Rezeptor enthält, Antagonisten des TNF, d. h. TNF-ähnliche Polypeptide, die an den Rezeptor binden, aber kein Signal auslösen, oder gentechnisch hergestelltes Interleukin 10 oder seine Mutanten, die an den IL-10 Rezeptor binden und dort ein Signal auslösen. Als Komplement-Inhibitoren oder Kallikrein-Inhibitoren sind beispielsweise geeignet aus Humanplasma gereinigter oder gentechnisch hergestellter C1-Esterase-Inhibitor (C1INH) sowie seine Mutanten mit Enzym-inhibierender Aktivität, synthetische Komplement-Inhibitoren, das heißt chemisch hergestellte Substanzen, die durch ihre komplement-inhibierende Wirkung charakterisiert sind, natürliches oder gentechnisch hergestelltes Aprotinin oder seine kallikrein-inhibierenden Mutanten oder synthetische Kallikrein-Inhibitoren, das heißt chemisch hergestellte Substanzen, die durch ihre kallikrein-inhibierende Wirkung charakterisiert sind.

Besonders bevorzugt sind Kombinationen von Antithrombin III (beispielsweise Kybernin^R, Behringwerke AG) oder rec. Hirudin (Behringwerke AG) mit C1 Esterase Inhibitor (beispielsweise Berinert^R, Behringwerke AG).

20

Dosierungen:	AT III	5 - 1000 U/kg
	rec. Hirudin	0.1 - 20 mg/kg
	C1INH	5 - 1000 U/kg

25 Die folgenden Beispiele erläutern die Erfindung näher:

Beispiel 1

Weibliche CD-Ratten wurden mit einer lethalen Dosis Endotoxin (50 mg/kg, i. v.) behandelt. Es wurden drei Gruppen gebildet, die für 5 Stunden, beginnend bei 15 Minuten vor der Gabe von LPS, intravenös infundiert wurden (1 ml/h). Gruppe 1 erhielt physiologische Kochsalzlösung, Gruppe 2 erhielt 0.17 mg/kg x h rekombinantes Hirudin, Gruppe 3 erhielt die Kombinationstherapie von 0.17 mg/kg x h rekombinantes Hirudin und 100 Units/kg x h C1 Esterase Inhibitor. Tabelle 1 zeigt, daß rec. Hirudin eine deutliche Verlängerung der Überlebensrate im Vergleich zur Kontrolle bewirkt, die Kombinationstherapie mit C1-Esterase-Inhibitor war überraschenderweise der Therapie mit dem Antithrombotikum alleine deutlich überlegen.

40

45

50

55

Tabelle 1

	Mortalität (% Tote)	
	6 h	10 h
1. Kontrolle (n = 8)	50	88
2. rec. Hirudin, 0.17 mg/kg x h (n = 9)	0	66
3. rec. Hirudin, 0.17 mg/kg x h + C1 Inhibitor, 100 U/kg x h (n = 10)	0	20

Signifikanzen:	1 -> 2 p < 0.01	1 -> 3 p < 0.01
	1 -> 3 p < 0.01	2 -> 3 p < 0.05

Beispiel 2

Im gleichen Tiermodell wie in Beispiel 1 wurden zwei Gruppen gebildet: die erste Gruppe erhielt eine Infusion von 37:5 U/Kg x h des aus humanem Plasma gewonnenen Thrombininhibitors Antithrombin III, die zweite Gruppe erhielt zusätzlich noch 125 U/kg x h C1 Esterase Inhibitor. Tabelle 2 zeigt, daß die Kombinationstherapie mit Antithrombin III und C1INH der Monotherapie mit dem Antithrombotikum alleine überlegen war.

Tabelle 2

5	Mortalität nach 8 h (Tote/Gesamt)	
10	-----	
15	1. AT III 37.5 U/kg x h	19/30
20	2. AT III, 37.5 U/kg x h + C1INH, 125 U/kg x h	11/30
25	-----	
	Signifikanz:	1 -> 2 p < 0.05

Es läßt sich mithin zeigen, daß die antithrombotische Therapie mit Antithrombin III und Hirudin sich mit anderen Prinzipien zur Prophylaxe und Therapie der Sepsis und des septischen Schocks kombinieren läßt.

Patentansprüche

1. Ein gewerblich hergestelltes Zweikomponenten-System für die Behandlung und Prophylaxe der Sepsis und des septischen Schocks, wobei die Komponenten bestimmt sind, in Kombination miteinander zu wirken, und wobei eine Komponente ein Thrombininhibitor und die zweite eine Substanz, welche die Bildung, die Freisetzung, die Plasma- und Gewebsspiegel sowie die Rezeptorbindung von Zytokinen beeinflusst oder ein Inhibitor des Komplements oder des Kallikrein/Kinin-Systems ist.
2. Zweikomponenten-System nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Komponenten in einem Arzneimittel enthalten sind.
3. Zweikomponenten-System nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Komponenten in einer Verpackungseinheit enthalten sind.
4. Zweikomponenten-System nach Anspruch 1, wobei der Thrombininhibitor ein aus Humanplasma gewonnenes oder gentechnisch hergestelltes Antithrombin III ist.
5. Zweikomponenten-System nach Anspruch 1, wobei der Thrombininhibitor das natürliche aus Blutegeln isolierte oder ein gentechnisch hergestelltes Hirudin oder eine Mutante des Hirudins oder eine synthetische thrombin-inhibierende Substanz ist.
6. Zweikomponenten-System nach Anspruch 1, wobei die zweite Komponente ein gentechnisch hergestellter löslicher Interleukin-1 Rezeptor oder Rezeptor-Antagonist oder sein Fc-Fusionsprotein, ein gentechnisch hergestellter löslicher TNF-Rezeptor oder Rezeptor-Antagonist oder sein Fc-Fusionsprotein oder das gentechnisch hergestellte Interleukin 10, ein Inhibitor des Komplements oder C1-Esterase-Inhibitor ist.

7. Zweikomponenten-System nach Anspruch 1, wobei die zweite Komponente ein Inhibitor des Kallikrein/Kinin-Systems ist.
8. Zweikomponenten-System nach Anspruch 5, wobei die zweite Komponente natürliches, aus Säugetiergewebe isoliertes oder gentechnisch hergestelltes Antagosan ist.
9. Verfahren zur Herstellung eines Zweikomponenten-Systems für die Behandlung und Prophylaxe -der Sepsis und des septischen Schocks, wobei die Komponenten bestimmt sind, in Kombination miteinander zu wirken, und wobei die eine Komponente ein Thrombininhibitor und die zweite ein Zytokin-Antagonisten, Bradykinin- oder Komplement-Inhibitor ist, dadurch gekennzeichnet, daß die Komponenten in eine für die Anwendung am Menschen geeignete Darreichungsform gebracht werden.
10. Verwendung eines Thrombininhibitors und eines Zytokin-Antagonisten oder Bradykinin- oder Komplement- Inhibitors in einem Verfahren zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung und Prophylaxe der Sepsis und des septischen Schocks.



Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung
EP 94 10 7265

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int.Cl.5)
X	DE-A-41 15 453 (KNOLL AG) 12. November 1992 * Tabelle 1 *	1,2,4-8	A61K37/02 A61K37/43 A61K31/16
X	US-A-4 994 367 (BODE ET AL) 19. Februar 1991 * Tabellen 4, und, 5 *	1-8	
X	SURG. RES. COMM. Bd. 7, 1990 Seiten 311 - 18 NAESS ET AL 'Multitherapy. A Treatment Principle to Modify Hemodynamic and Proteolytic Effects of Endotoxin' Zusammenfassung	1-10	
X	J LAB CLIN MED Bd. 113, 1989 Seiten 753 - 8 BODE ET AL 'The Use of Thrombin Inhibitors and Aprotinin in the Preservation of Platelets Stored for Transfusion' Zusammenfassung * Tabelle II *	1-10	
P,X	BEHRINGH INST. MITT. Bd. 93, Dezember 1993 Seiten 299 - 305 DICKNEITE G. 'Influence of C1-Inhibitor on Inflammation, Edema and Shock' Zusammenfassung * Tabelle 2 *	1-10	
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchesort MÜNCHEN		Abschlußdatum der Recherche 6. Oktober 1994	Prüfer Uiber, P
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE			
T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentedokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus andern Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument			
X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer andern Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : nichtschriftliche Offenbarung P : Zwischenliteratur			

EPO FORM 1500 03.92 (P6/C03)



Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung
EP 94 10 7265

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int.Cl.5)
X	ARCH INTERN MED Bd. 152 , 1992 Seiten 1381 - 89 BONE C. ROGER 'Modulator of Coagulation. A Critical Appraisal of their Role in Sepsis' * Seite 1387, Zeile 45 - Seite 1388, Zeile 21; Tabelle 2 *	1-10	
Y	ACTA ANAESTHOLOGIA SCAND. SUPPL. Bd. 35 , 1991 Seiten 169 - 71 AASEN ET AL 'New Aspects in the Treatment of Septicemia' * Seite 169, Spalte 2 *	1-10	
X	ZENTRALBL CHIR Bd. 118 , 1993 Seiten 482 - 91 BÖHRER ET AL 'Intensivmedizinische Aspekte der Sepsis und des Septischen Multiorganversagens' * das ganze Dokument *	1-10	
X	ARCHIVES OF DISEASE IN CHILDHOOD Bd. 68 , Mai 1993 Seiten 621 - 3 HEYDERMAN S. R. 'Sepsis and Intravascular Thrombosis' * Seite 622, Spalte 1; Tabelle 1 * * Seite 622, Spalte 2, Zeile 39, Absatz 3 - Zeile 49 *	1-10	
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenort MÜNCHEN			
Abschlußdatum der Recherche 6. Oktober 1994			
Prüfer Uiber, P			
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE			
X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : mündliche Offenbarung P : Zwischenliteratur			
T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentedokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus andern Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument			



Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung
EP 94 10 7265

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int.Cl.5)
P, X	INTENSIVE CARE MED. Bd. 19 , Juli 1993 Seiten S1 - S2 HACK C. E. 'Inhibitor Substitution in Sepsis' * Seite S2, Spalte 2, Zeile 5 - Zeile 9 *	1-10	
P, X	INTENSIVE CARE MED. Bd. 19 , Juli 1993 MAMMEN E. F. 'Perspectives for the Future' * Seite S32, Spalte 2, Zeile 23 - Zeile 45 *	1-10	
Y	THE J. OF INFECT. DISEASES Bd. 151, Nr. 6 , 1985 Seiten 1019 - 27 KALTER ET AL 'Activation and Inhibition of Hageman Factor-Dependent Pathways and the Complement System in Uncomplicated Bacteremia or Bacterial Shock' * das ganze Dokument *	1-10	
			RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int.Cl.5)
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenort MÜNCHEN		Abschlußdatum der Recherche 6. Oktober 1994	Prüfer Uiber, P
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : nichtschriftliche Offenbarung P : Zwischenliteratur T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument I : aus andern Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument			

EPO FORM 1500 01.82 (P06C01)

